

# 小腸上皮細胞を標的とした新しいdrug delivery systemを用いた大腸全摘後の小腸のadaptationの誘導

著者	羽根田 祥
号	2343
発行年	2006
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22959">http://hdl.handle.net/10097/22959</a>

氏 名（本籍）	羽 <sup>は</sup> 根 <sup>ね</sup> 田 <sup>だ</sup> 祥 <sup>しょう</sup>
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 2 3 4 3 号
学位授与年月日	平 成 18 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学 位 論 文 題 目	Promotion of intestinal adaptation after total proctocolectomy by a new drug delivery system targeting ileal epithelial cells （小腸上皮細胞を標的とした新しい drug delivery system を用いた大腸全摘後の小腸の adaptation の誘導）
論文審査委員	（主 査） 教授 佐々木 巖 教授 林 富  教授 丸 山 芳 夫

# 論文内容要旨

## 背景

潰瘍性大腸炎，家族性大腸腺腫症患者に対して大腸全摘，回腸肛門吻合術が施行されているが，術後に大腸欠落症状である水溶性下痢に悩まされることが多い。われわれはこれまで小腸の‘adaptation’の解明を目指して研究を進めており，水分，Na 吸収を促進する分子，すなわち epithelial sodium channel (ENaC)，prostasin，11b-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11b-HSD 2) がラットで大腸全摘後の高 aldosterone 血症下で残存小腸において誘導されることを発見し，それらの分子により Na 及び水分吸収が促進されることをつきとめた。また，aldosterone を持続皮下注したラットでも同様に回腸末端部において上記の分子が誘導されることから，aldosterone が‘adaptation’に重要な役割を果たしているということが示唆されてきた。

近年小腸の gut associated lymphoid tissue である Peyer 板のもつ粒子に対する非特異的な取り込み能力を利用し，これに取り込まれる microsphere を用いて薬物を目的の部位に効率よく到達させる drug delivery system が研究されてきた。われわれはこの system に着目して aldosterone を含有した microsphere を作成し，これを使って全身の他の臓器に影響を与えることなく回腸末端部の aldosterone 濃度のみを増加させ，aldosterone 関連の上記分子の誘導を促進できるかを検討した。

## 目的

Drug delivery system を用いて残存小腸の‘adaptation’を誘導することにより大腸全摘後の水様下痢便に対する新しい治療方法を確立することを目的とした。

## 材料・方法

D-aldosterone (Ald) 含有 D, L-lactide/glycolide (PLGA) microsphere (Ald-PLGA) を W/O/W ダブルエマルジョンからの液中乾燥法により作成した。粒子の徐放性を調べるため，aldosterone が生食中で Ald-PLGA より徐放されてくる割合を求め，releasing curve を作成した。200-250 g 雄性ラットを無処置群 (Group A)，PLGA 群 (Group B)，Ald 単独群 (Group C)，Ald-PLGA 群 (Group D) に分け，それぞれに2週間経口投与した。回腸末端部の組織と動脈血を採取し，組織中および血漿中の aldosterone 濃度を測定した。次に回腸末端部より上皮細胞を分離し，セシウムーグアニジン法にて RNA を採取，RT-PCR 法にて水分，Na 吸収に関与しているいくつかの分子の mRNA を測定した。また，免疫染色法にて ENaC の蛋白レベルでの発現を見た。

## 結 果

24時間で約48%, 48時間で約97%の aldosterone が生食中で Ald-PLGA より徐放されていた。Group D では血中 aldosterone 濃度を上げることなく組織中 aldosterone 濃度が上昇していることを確認したが、他の group では組織中、血中いずれにおいても aldosterone 濃度の上昇は認められなかった。RT-PCR 法の結果では、ENaC, prostasin, 11 $\beta$ -HSD2 mRNA の発現が誘導されることを Group D でのみ認めた。一方、Na 吸収機構の一種である Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, Sodium glucose cotransporter-1 に関しては mRNA の上昇は認められなかった。蛋白レベルでは、小腸上皮の刷子縁での ENaC 蛋白の発現が Group D においてのみ認められた。

## ま と め

われわれは、この drug delivery system を用いて小腸の ‘adaptation’ に重要である Na 吸収を促進する上記分子の terminal ileum における誘導に成功した。術前、あるいは術後にこの粒子を用いることにより、大腸欠落症状である脱水の改善に応用できる可能性も示唆された。

## 審査結果の要旨

潰瘍性大腸炎や家族性大腸腺腫症では大腸全摘（TPC），回腸肛門吻合術が広く施行されているが，術後に大腸欠落症状である水様性下痢便に悩む人が多い。残存小腸の adaptation を誘導し，水様性下痢便を改善することは TPC 後の良好な QOL を得るのに重要である。一方，ラットでは TPC 後の血中アルドステロン濃度の上昇と，残存小腸に epithelial sodium channel (ENaC)，11b-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11b-HSD2)，progesterone などのアルドステロン関連分子が誘導されることが知られている。この研究は TPC 後の小腸の ‘adaptation’ の仕組みの解明の一環として回腸末端部局所のアルドステロン濃度を上昇させることによりアルドステロン関連分子の誘導ができるかどうかと，アルドステロンを用いた drug delivery system の将来の臨床応用の可能性について調べることを目的としたものである。実験ではアルドステロン含有 D,L-lactide/glycolide copolymer (PLGA) を作成し，これをラットに経口投与し，回腸末端部でアルドステロンを徐放させることにより回腸末端部でのアルドステロン関連分子の誘導，すなわち小腸の ‘adaptation’ が起こるかどうかを見た。まずラットにアルドステロン含有 PLGA 粒子を2週間連日経口投与し，血中及び回腸末端部組織中のアルドステロン濃度を ELISA 法にて測定して血中濃度を上げることなく組織中アルドステロン濃度を上昇させることができたかを調べた。ついてアルドステロン関連分子の mRNA 発現を RT-PCR 法にて，ENaC の蛋白発現を免疫染色法で，ENaC を介した水分電解質吸収能を Ussing chamber を用いて電気生理学的に検討した。結果はラットの血中アルドステロン濃度を上げることなく回腸末端部局所のアルドステロン濃度を上昇させることに成功した。一方，アルドステロン関連分子については，回腸末端部での ENaC，11b-HSD2，prostasin の mRNA レベル，ENaC の蛋白レベルでの発現誘導及び ENaC を介した水分電解質吸収能の増加が認められた。このことはアルドステロン含有 PLGA 粒子を用いることにより回腸末端部にアルドステロン関連分子の誘導，すなわち小腸の ‘adaptation’ を起こし，将来のヒトへの臨床応用の可能性についても示唆している。この研究は，将来的に TPC を行う患者に術前あるいは術後にアルドステロン含有 PLGA 粒子を服用させることにより術後の水様性下痢便の改善に応用できる可能性が示された重要な研究である。よって，本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。